



TITLE:

Theoretical Prediction of Changes in Protein Structural Stability upon Cosolvent or Salt Addition and Amino-acid Mutation(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Murakami, Shota

CITATION:

Murakami, Shota. Theoretical Prediction of Changes in Protein Structural Stability upon Cosolvent or Salt Addition and Amino-acid Mutation. 京都大学, 2017, 博士(エネルギー科学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20481>

RIGHT:

This is the author's version of a work that was accepted for publication in The Journal of Chemical Physics. The work was published by the American Institute of Physics in The Journal of Chemical Physics, 144, 125105(1-10) (2016), 10.1063/1.4944680; This is the author's version of a work that was accepted for publication in The Journal of Chemical Physics. The work was published by the American Institute of Physics in The Journal of Chemical Physics, 146, 055102(1-15) (2017), 10.1063/1.4975165; This is the author's version of a work that was accepted for publication in The Journal of Chemical Physics. The work was published by the American Institute of Physics in The Journal of Chemical Physics, 143, 125102(1-13) (2015), 10.1063/1.4931814

(続紙 1)

京都大学	博士 (エネルギー科学)	氏名	村上翔太
論文題目	Theoretical Prediction of Changes in Protein Structural Stability upon Cosolvent or Salt Addition and Amino-acid Mutation (共溶媒や塩の添加およびアミノ酸置換に伴う蛋白質立体構造安定性変化の理論的予測)		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、「共溶媒や塩の添加およびアミノ酸置換に伴う蛋白質立体構造安定性変化を統計熱力学に基づく理論でどこまで予測できるか」について論じた結果をまとめたもので、5章からなっている。</p> <p>第1章は序論で、木下らによって開発された積分方程式論と形態計測学的アプローチの統合型理論の他には見られない利点について論じている。この理論を用いると、「溶媒和エントロピーなどの熱力学量の蛋白質折り畳みに伴う変化が、共溶媒や塩の添加およびアミノ酸置換にどのように影響されるか」を定量的に評価でき、しかもそれらの変化を種々の成分に分解することによって物理的に綿密な考察が可能となる。溶媒の並進配置エントロピーの効果のみで実験事実をどの程度説明できるのかを明確にしつつ、できない場合には他のいかなる因子を組み込む必要があるのかを段階的に吟味することができる。</p> <p>第2章では、溶媒の並進配置エントロピーに特化した解析により、「1価アルコールの添加は蛋白質の熱変性温度 T_m を低下させ、アルコール分子中の疎水基部位が大きいほど低下の程度も大きくなる；多価アルコールの添加は T_m を上昇させ、アルコール分子中の OH 基の数が多いほど上昇の程度も大きくなる」という実験事実の定量的再現に成功している。疎水効果が弱まった場合に T_m は低下し、強まった場合に上昇することも論じている。ただし、疎水効果が強まる（弱まる）とは系内の水分子間の混み合い即ちエントロピックな相関が強まる（弱まる）ことを意味する。一方、実験事実に反して尿素の添加は T_m を上げるという結果を得ているが、この不一致の問題に関しては第3章で再検討して解決している。</p> <p>第3章では、アルカリハライド（最も基本的な塩）や共溶媒の添加が、アルゴンなどの無極性気体の溶解度に及ぼす影響を解析している。この場合、添加に伴う疎水効果の強さの変化が支配的である。通常、無極性気体の溶解度を低下させる共溶媒や塩の添加は蛋白質の T_m を上昇させ、溶解度を上昇させる添加は T_m を低下させる。このことは、蛋白質の熱安定性の変化も添加に伴う疎水効果の強さの変化で議論できることを意味する。しかし、以下の例外がある：尿素の添加は溶解度を低下させるのに T_m を低下させる；B^- および I^- の添加は溶解度を低下させるのに、正に荷電した部位を多く持つ蛋白質の T_m を低下させる。尿素は蛋白質近傍、B^- または I^- は蛋白質の正に荷電した部位近傍に濃縮され、水の一部がそれらに置き換わる。こ</p>			

の置き換わりが蛋白質－溶媒（純水の場合には水，溶液の場合には「水＋共溶媒あるいはイオン」を一括して溶媒と呼ぶ）間のファン・デル・ワールス相互作用エネルギーの低下に繋がることで，上記の例外をも説明できることを論じている。疎水効果の強さの変化が支配的である場合，イオン添加の影響の大きさの順序を表すホフマイスター系列が $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$ と $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ になることを示している。同時に，対象とする溶質の特性や注目する物理量に依存して，疎水効果以外のいかなる因子がいかなる理由で効き，その結果上記の順番がどのように変化するかについて考察している。

第4章では，アミノ酸置換によって生じる蛋白質の T_m の上昇あるいは低下を定量的に予測できる方法を提案し，その有効性を検証している。本方法は，十分多くの実験データに合うように最適化されるフィッティングパラメータを一切含まないという従来法には見られない特徴を有する。それにも拘わらず，その性能は従来法の中でも特に高い評価を得ている FOLD-X のそれを上回る。この結果は，水の並進配置エントロピーの効果が本方法においてのみ満足に考慮されていることに起因することを論じている。

第5章は結論である。種々の共溶媒や塩の添加に伴う蛋白質立体構造安定性変化をこれほどまでに良好に説明できた例は他に無い。長年未解決であったホフマイスター系列の問題に対する斬新な見解を提案したことは特筆すべき点である。僅か1残基ないしは数残基の置換に伴う構造安定性変化を予測する問題にも純理論的に挑戦し，大きな成果を得ている。以上の結果は，溶媒環境の調節やアミノ酸置換による蛋白質の構造安定性の向上及び機能改善に関する研究に大きく貢献する。エネルギー科学における重要課題，例えば，機能性マイクロデバイスとしてのモーター蛋白質や木質バイオマスの分解酵素の耐熱化にも応用できる。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、「共溶媒や塩の添加およびアミノ酸置換に伴う蛋白質立体構造安定性変化の統計熱力学的予測」について研究した結果を纏めたものであり、得られた主な成果は次の通りである。

1. 「1 価アルコールの添加は蛋白質の熱変性温度 T_m を低下させ、アルコール分子中の疎水基部位が大きいほど低下の程度も大きくなる；多価アルコールの添加は T_m を上昇させ、アルコール分子中の OH 基の数が多いほど上昇の程度も大きくなる」という実験事実を定量的に再現できた。

2. アルカリハライド（最も基本的な塩）の添加は 4. で述べる例外を除いて T_m を上昇させ、上昇の程度の大きさの順序（ホフマイスター系列）は、カチオンに対しては $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$ 、アニオンに対しては $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ になるという実験事実を説明できた。

3. 添加によって疎水効果が強まる場合に T_m は上昇し、弱まる場合に T_m は低下することを示した。ただし、疎水効果が強まる（弱まる）とは系内における水分子間の混み合い即ちエントロピックな相関が強まる（弱まる）ことを意味する。

4. 尿素の添加は T_m を低下させ、サイズの大きなアニオン (B^- と I^-) の添加は正に荷電した部位を多く持つ蛋白質の T_m を低下させる。この実験事実は疎水効果の強さの変化のみでは説明できない。尿素は蛋白質近傍、 B^- や I^- は蛋白質の正に荷電した部位近傍に濃縮され、水の一部がそれらに置き換わる。この置き換わりが蛋白質－溶媒間のファン・デル・ワールス相互作用エネルギーの低下をもたらすことで説明できた。

5. ホフマイスター系列は、対象とする溶質の特性や注目する物理量によって変動する。疎水効果、溶質－イオン間のファン・デル・ワールス相互作用、溶質分子内の電荷のカウンターイオンによる遮蔽効果の強さによってその変動を議論した。

6. アミノ酸置換によって生じる蛋白質の T_m の上昇あるいは低下を定量的に予測する問題に純理論的に挑戦し、経験的色彩の強い従来法を凌駕する予測性能を得た。この成功は、系内における水分子間の混み合いの効果を初めて精密に組み込んだことに起因する。

以上の結果は、溶媒環境の調節やアミノ酸置換による蛋白質の構造安定性の向上及び機能改善に関する研究に大きく貢献する。エネルギー科学における重要課題、例えば、機能性マイクロデバイスとしてのモーター蛋白質や木質バイオマスの分解酵素の耐熱化にも応用できる。よって、本論文は博士（エネルギー科学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 29 年 2 月 23 日実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。

論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文の全文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降